西南地区 6 种魔芋属植物基于 cpDNA 序列的遗传多样性研究

殷斯[1]，郝转[2]，陆飞东[1]，高永[1*]

（1. 曲靖师范学院生物资源与食品工程学院，云南 曲靖 655011；2. 渭南师范学院环境与生命科学学院，陕西 渭南 714099）

摘　要：研究野生作物资源的遗传变异及分化机制对种质资源的收集与改良具有重要意义。魔芋是我国西南地区的特色经济作物，但由于受到人为活动干扰，野生种群不断衰退。为评估西南地区魔芋属（*Amorphophallus*）野生群体的遗传多样性，探究代表性物种的系统发育地位，该研究利用 3 个叶绿体 DNA（cpDNA）片段，分析了魔芋 6 个物种的遗传多样性，重建了种间系统发育关系。结果表明：（1）西南地区野生魔芋群体的遗传多样性普遍较低，虽然单倍型多样性（H_d）均值为 0.428，但近一半群体只有 1 个单倍型，6 个物种整体水平上的单倍型多样性在 0.704 到 0.983 之间。（2）在 6 个物种间检测到高水平的遗传分化，遗传分化系数（F_{ST}）值在 0.481 到 0.967 之间。（3）系统发育分析表明，选取的 27 个魔芋种主要聚成三个分支：非洲分支、东南亚分支和东亚分支。疣柄魔芋（*A. paeoniifolius*）隶属于东南亚区系，而东亚分支 A 包含花魔芋（*A. konjac*）和西盟魔芋（*A. krausei*），东亚分支 B 由东亚魔芋（*A. kiusianus*）、滇魔芋（*A. yunnanensis*）和东京魔芋（*A. tonkinensis*）构成。生境隔离与人为干扰造成了西南地区野生魔芋群体较低的遗传多样性，魔芋属东亚支系的分化可能与早期的快速扩张和生态适应有关。该研究为西南地区魔芋资源的合理保护、可持续利用和杂交育种提供了参考资料。

关键词：西南地区，魔芋属，遗传多样性，系统发育，物种保护

中图分类号：Q948　　　　　　　　　　**文献标识码：**A

Genetic diversity of six *Amorphophallus* species in Southwest China based on cpDNA sequences

YIN Si[1], HAO Zhuan[2], LU Feidong[1], GAO Yong[1*]

(1. *College of Biological Resource and Food Engineering*, *Qujing Normal University*, Qujing 655011, Yunnan, China; 2. *College of Environment and Life Science*, *Weinan Normal University*, Weinan 714099, Shannxi, China)

Abstract: Investigating mechanisms underlying genetic variation and differentiation of wild resources is critical for the utilization and improvement of crop germplasms. *Amorphophallus* is an important economic crop in Southwest China for its glucomannan production. However, the wild populations of this genus are declining due to human activities. To investigate the genetic diversity and phylogenetic relationship of representative *Amorphophallus* species in Southwest China, three chloroplast DNA fragments were amplified and used to conduct population genetic and phylogenetic studies. The results were as follows: (1) The genetic diversity of wild

---

基金项目：国家自然科学基金（31760103）；云南省地方本科高校（部分）基础研究联合专项青年项目（202101BA070001-011）[Supported by National Natural Science Foundation of China (31760103); Special Basic Cooperative Research Programs of Yunnan Provincial Undergraduate Universities (202101BA070001-011)]。

第一作者：殷斯（1991-），硕士研究生，助教，研究方向为植物谱系地理学，（E-mail）1114996463@qq.com。

[*]**通信作者：**高永，博士，副教授，研究方向为植物谱系地理学，（E-mail）562698574@qq.com。

Amorphophallus populations was generally low with an average haplotype diversity (H_d) of 0.428. In addition, nearly half of the total populations had only one haplotype. The haplotype diversity of each species varied from 0.704 to 0.983. (2) The genetic differentiation between each pair of six species was relatively high, and the F_{ST} values ranged from 0.481 to 0.967. (3) The phylogenetic inference suggested that 27 selected *Amorphophallus* species should be divided into three clades. *A. paeoniifolius* belonged to the Southeast Asia clade. The continental Asia A clade included *A. konjac* and *A. krausei*, and continental Asia B clade was comprised of *A. kiusianus*, *A. yunnanensis* and *A. tonkinensis*. Geographic isolation and human disturbance could have caused the low genetic diversity in wild populations of *Amorphophallus*. The divergence of the continental Asia clade may be driven by the rapid radiation and ecological adaptation in species of this clade. These findings provide theoretical guidance for the conservation, utilization and breeding of *Amorphophallus* species in Southwest China.

Keywords: Southwest China, *Amorphophallus*, genetic diversity, phylogeny, species conservation

探究栽培作物野生资源的遗传多样性及遗传分化机制对种质资源的收集与品种改良具有重要的应用价值和科研意义。魔芋是天南星科（Araceae）、魔芋属（*Amorphophallus* Blume）的多年生草本植物（白立伟等，2016），主要分布于西非、亚洲中南半岛、中国西南山地和东南亚国家的热带及亚热带地区，全球约 200 种，我国约有 20 种（刘佩瑛，2004）。魔芋在我国具有悠久的栽培利用历史并且野生种质资源丰富，其地下球状块茎富含葡甘聚糖，具有重要的经济价值（李恒和龙春林，1998）。近年来，我国的魔芋种植面积不断扩大，自 2017 年西南各省的总种植面积已达到世界第一（Srzednicki & Borompichaichartkul, 2020）。但由于长期无性繁殖，魔芋种质出现了品质下降、产量降低、病害流行等问题，要推动魔芋产业的进一步发展，加快野生种质资源的收集与遗传多样性评价已刻不容缓（宣慢，2010）。

20 世纪 80 年代起，我国对魔芋种质资源的起源与进化、种质的亲缘关系和分类等进行了研究并取得一定的成果（牛义等，2005）。李恒研究整理了中国魔芋属植物 19 种，包括中国特有的 8 个种，后续又发现命名了 3 个新种（李恒，1988）。一些分子生物学研究利用 ISSR、RAPD、AFLP 等分子标记，探讨了魔芋部分栽培品种之间的亲缘关系（张盛林和孙远航，2006；任盘宇和潘明清，2013；Pan et al., 2015）。但目前我国在魔芋野生资源的亲缘关系特别是分子系统进化方面的研究还较为欠缺，各地命名混乱，同种异名，同名异种的现象较为突出，特别是对野生魔芋资源的遗传变异缺乏系统研究（牛义等，2005）。

作为西南地区的特色经济作物，魔芋具有重要的经济与生态价值（赵培城等，2015）。但人类活动，如环境污染、生境破坏等行为，造成了魔芋野生群体的衰退（牛义等，2005）。作为种质资源改良的优良材料，加快野生种质资源的研究与利用，对魔芋的品种改良具有重要意义。当前对魔芋野生群体的遗传背景缺乏了解，给资源保护和育种工作造成了很大阻碍（Gao et al., 2017）。叶绿体 DNA（cpDNA）为单系遗传，遗传过程不经历基因重组，被广泛地应用于植物系统发育、遗传多样性评价等研究中（李娅翔等，2020）。cpDNA 片段 *trn*K-*mat*K、*rbc*L 和 *trn*L 在天南星科的系统进化研究中，被证明具有通用性好、突变率高的特点（Grob et al., 2002; Sedayu et al., 2010）。破碎生境对种群动态的影响及演化趋势是保育遗传学研究的热点问题，遗传多样性则是推断物种进化潜力的重要指标之一（王峥峰和葛学军，2009）。为评估西南地区魔芋属物种野生群体的遗传多样性，探究代表物种的系统发育地位，本研究采用以上 3 个 cpDNA 片段对西南地区 6 种魔芋属植物的野生群体进行遗传多样性及种间系统发育研究，以期为西南地区魔芋物种的保护提供指导，为今后魔芋的种质创新提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2019—2021 年，本研究采集南方五省（区）（云南、广西、贵州、湖南、江西）的魔芋属 6 个种，即花魔芋（*A. konjac*）、东京魔芋（*A. tonkinensis*）、西盟魔芋（*A. krausei*）、滇魔芋（*A. yunnanensis*）、疣柄魔芋（*A. paeoniifolius*）、东亚魔芋（*A. kiusianus*）的野生群体。采样过程中，随机选择植株，每株样本间隔至少 5 m，采集叶片置于硅胶中干燥保存（表 1）。采用植物基因组 DNA 提取试剂盒（天根，北京）提取魔芋叶片总基因组 DNA，1.5%琼脂糖凝胶进行电泳检测。

表 1　本研究的魔芋群体样本采集地点信息

Table 1 Geographic information of *Amorphophallus* populations collected in this study

物种 Species	群体编号 Population ID	纬度 Latitude (N)	经度 Longitude (E)	采样点地址 Sampling location
花魔芋 *A. konjac*	SZTL	24°38'49"	104°8'16"	云南师宗 Shizong, Yunnan
	KZSMY	25°8'60"	102°44'9"	云南昆明 Kunming, Yunnan
	WFSY	24°53'60"	103°43'33"	云南陆良 Luliang, Yunnan
	YXSBQ	23°22'8"	102°25'58"	云南玉溪 Yuxi, Yunnan
	GXKK	23°18'32"	105°56'6"	广西那坡 Napo, Guangxi
东京魔芋 *A. tonkinensis*	BLZ	22°33'18"	103°57'10"	云南河口 Hekou, Yunnan
	GXLLG	24°7'48"	106°33'43"	广西百色 Baise, Guangxi
	GXNL	23°4'37"	105°44'34"	广西那坡 Napo, Guangxi
	NGNS	22°28'26"	106°57'0"	广西龙州 Longzhou, Guangxi
西盟魔芋 *A. krausei*	JDYSD	24°41'2"	100°28'33"	云南景东 Jingdong, Yunnan
	PZQ	21°48'7"	102°22'37"	云南西双版纳 Xishuangbanna, Yunnan
	XDX7	24°26'31"	98°37'15"	云南芒市 Mangshi, Yunnan
	LYCG	22°21'46"	100°58'12"	云南景洪 Jinghong, Yunnan
	XLSD	22°2'6"	101°14'52"	云南西双版纳 Xishuangbanna, Yunnan
滇魔芋 *A. yunnanensis*	SZFHG	24°37'8"	104°14'45"	云南师宗 Shizong, Yunnan
	BMHC	22°39'46"	101°9'10"	云南普洱 Puer, Yunnan
	BNGD	22°19'15"	101°31'51"	云南西双版纳 Xishuangbanna, Yunnan
	LCYDYL	24°14'38"	99°34'12"	云南临沧 Lincang, Yunnan
	YSXS	28°46'58"	110°12'54"	湖南永顺 Yongshun, Hunan
	LYLZW	24°16'51"	106°39'57"	广西凌云 Lingyun, Guangxi
	YSCTY	28°47'24"	110°15'25"	湖南永顺 Yongshun, Hunan
	GZMXCD	25°14'56"	106°5'52"	贵州望谟 Wangmo, Guizhou
疣柄魔芋 *A. paeoniifolius*	MXXZ	21°53'2"	102°21'28"	云南西双版纳 Xishuangbanna, Yunnan
	DW	26°47'34"	100°28'15"	云南景东 Jinghong, Yunnan

	NJZ	23°34'26"	99°33'46"	云南镇康 Zhenkang, Yunnan
东亚魔芋 *A. kiusianus*	GLYJC	25°41'6"	110°53'9"	广西桂林 Guilin, Guangxi
	YLSNG	26°31'58"	113°59'20"	湖南炎陵 Yanling, Hunan
	JABF	28°58'8"	115°23'13"	江西靖安 Jing'an, Jiangxi

1.2 PCR 扩增和测序

利用已发表的引物对 *trn*K-*mat*K、*rbc*L 和 *trn*L 3 个 cpDNA 片段进行 PCR 扩增（表 2）。PCR 扩增体系总体积为 30 μL，包含 20~50 ng DNA 模板、正、反向引物（10 μmol·L^{-1}）、2×PCR StarMix（GenStar）和 ddH$_2$O 等。反应程序设置为预变性，95 ℃，5 min；35 个扩增循环，95 ℃变性 30 s，56 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 60 s；终延伸，72 ℃，7 min。扩增产物经 1.5 %琼脂糖凝胶电泳检测，合格产物送生工生物工程（上海）股份有限公司进行双向测序。

表 2 本研究 cpDNA 片段扩增所用引物序列

Table 2 The primer sequences used in the amplification of cpDNA fragments in this study

cpDNA 标记 cpDNA marker	引物序列 Primer sequence	参考文献 Reference
*trn*K-*mat*K	F：5′-CTTGCAGTTTTCATTGCACA-3′， R：5′-TTCACTTTTGGTCTCAACCC-3′	Johnson & Soltis, 1994
*rbc*L	F：5′-ATGTCACAACA AACAGAAAC-3′， R：5′-TCCTTTTAGTAAAAGATTGGGCCGAG-3′	Olmstead et al., 1992
*trn*L	F：5′-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3′， R：5′-GGGGATAGAGGGACTTGAAC-3′	Taberlet et al., 1991

1.3 数据分析

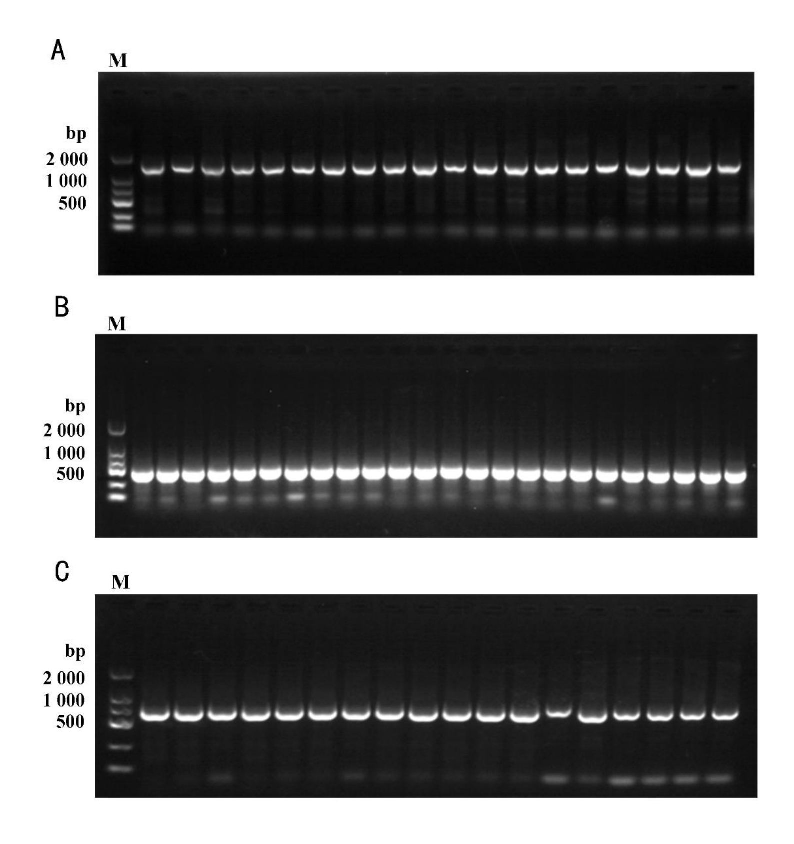
首先，采用 Lasergene 软件的 Seqman 工具对 3 个 cpDNA 片段进行拼接（DNAStar Inc., Madison, WI, USA）；然后，使用 MEGA v7.0 的 Clustal W 算法对所有样本的 DNA 序列进行比对，将同一个体的 3 个 cpDNA 片段序列串联作为一个整体进行分析(Kumar et al., 2016)。遗传多样性评估时，将连续多碱基的插入/缺失突变视为单突变事件（Simmons & Ochoterena, 2000）。为减少误差，样本量少于 3 个的群体（KZSMY、GXKK）不用于群体遗传多样性分析。采用 Arlequin 软件评估 6 个物种间的遗传分化系数（F_{ST}），并用 1 000 次模拟运算评估显著性（Excoffier & Lischer, 2010）。

为评估魔芋 6 个物种之间的亲缘关系及系统进化地位，本研究使用 IQ-TREE 1.6.12 对 cpDNA 单倍型序列进行核酸替代模型检测，构建最大似然法（maximum likelihood，ML）系统进化树，运行 1 000 次 Bootstrap 检测显著性（Nguyen et al., 2014）。此外，采用 SplitsTree 4.14.6 对所有单倍型序列构建 Neighbor-Net 树，评估魔芋种间的网状进化关系（Huson & Bryant, 2006）。

2 结果与分析

2.1 cpDNA 序列扩增

对来源于 28 个野生群体的 170 个样本分别进行 cpDNA 序列扩增，3 个 cpDNA 片段的电泳检测结果表明，PCR 目的产物条带清晰，符合测序要求（图 1）。



M 表示 DL2 000 Marker。

M indicates DL2 000 Marker.

图 1　部分样本 3 个 cpDNA 片段[*rbc*L (**A**)、*trn*L (**B**)、*trn*K-*mat*K (**C**)]扩增产物电泳图

Fig. 1 Electrophoresis of amplification products of three cpDNA fragments [*rbc*L (**A**)、*trn*L (**B**) and *trn*K-*mat*K (**C**)]

2.2 基于 cpDNA 的物种遗传变异与遗传多样性

经样本间的序列拼接和比对，得到的 3 个叶绿体片段 *trn*K-*mat*K、*rbc*L 和 *trn*L 的序列长度分别为 719、1 312、315 bp。将同一个体的三条序列串联进行整体分析，序列总长度为 2 346 bp。在所有样本序列中检测到 128 个多态性位点，其中插入/缺失突变位点 78 个，共得到 57 个单倍型。遗传多样性分析表明，群体遗传多样性较低，核苷酸多样性（π）在 0.000 到 0.009 31 之间。在部分群体只有一个单倍型（26 个群体中的 12 个），而群体 DW（疣柄魔芋）和 NJZ（疣柄魔芋）具有最高的群体单倍型多样性（H_d=1.0）。而在物种水平，每个物种的单倍型数量从 4 到 14 不等，其中疣柄魔芋和东京魔芋的遗传多样性较高（表 3）。在花魔芋、东京魔芋、西盟魔芋和滇魔芋的种内群体间发现了共享单倍型，但 6 个物种之间没有共有单倍型存在。物种间的两两遗传分化表明，花魔芋和滇魔芋两个物种间的遗传分化系数最高（F_{ST}=0.942）；而花魔芋和西盟魔芋的遗传分化系数最低，为 0.481（表 4）。

表 3　西南地区魔芋 6 个物种的 cpDNA 序列遗传多样性参数

Table 3 Genetic diversity parameters of six *Amorphophallus* species from Southwest China surveyed for cpDNA sequence

物种 Species	群体编号 Population ID	样本数 Sample number	单倍型（个体数) Haplotypes (Individual number)	多态性位点 *S*	单倍型多样性 H_d	核苷酸多样性 π

花魔芋 *A. konjac*		23	Hap_1 (9)、Hap_2 (2)、Hap_3 (8)、Hap_4 (4)	7	0.719	0.001 07
	SZTL	7	Hap_1 (7)	0	0.000	0.000 00
	KZSMY	2	Hap_2 (2)	—	—	—
	WFSY	8	Hap_3 (8)	0	0.000	0.000 00
	YXSBQ	4	Hap_4 (4)	0	0.000	0.000 00
	GXKK	2	Hap_1 (2)	—	—	—
东京魔芋 *A. tonkinensis*		27	Hap_5 (1)、Hap_6 (1)、Hap_7 (1)、Hap_8 (1)、Hap_9 (2)、Hap_10 (1)、Hap_11 (5)、Hap_12 (1)、Hap_13 (4)、Hap_14 (1)、Hap_15 (6)、Hap_16 (1)、Hap_17 (1)、Hap_18 (1)	19	0.911	0.001 37
	BLZ	7	Hap_5 (1)、Hap_6 (1)、Hap_7 (1)、Hap_8 (1)、Hap_9 (2)、Hap_10 (1)	8	0.952	0.000 63
	NGNS	5	Hap_11 (5)	0	0.000	0.000 00
	GXLLG	9	Hap_12 (1)、Hap_13 (3)、Hap_14 (1)、Hap_15 (2)、Hap_16 (1)、Hap_17 (1)	8	0.929	0.000 94
	GXNL	6	Hap_13 (1)、Hap_15 (4)、Hap_18 (1)	4	0.600	0.000 53
西盟魔芋 *A. krausei*		34	Hap_19 (7)、Hap_20 (5)、Hap_21 (5)、Hap_22 (1)、Hap_23 (1)、Hap_24 (11)、Hap_25 (1)、Hap_26 (1)、Hap_27 (1)、Hap_28 (1)	36	0.829	0.001 53
	JDYSD	7	Hap_19 (7)	0	0.000	0.000 00
	PZQ	5	Hap_20 (5)	0	0.000	0.000 00
	XDX7	7	Hap_21 (5)、Hap_22 (1)、Hap_23 (1)	7	0.524	0.000 74
	LYCG	8	Hap_24 (6)、Hap_25 (1)、Hap_26 (1)	18	0.464	0.001 18
	XLSD	7	Hap_24 (5)、Hap_27 (1)、Hap_28 (1)	2	0.524	0.000 25
滇魔芋 *A. yunnanensis*		58	Hap_29 (17)、Hap_30 (13)、Hap_31 (1)、Hap_32 (24)、Hap_33 (1)、Hap_34 (1)、Hap_35 (1)	6	0.704	0.000 42
	SZFHG	7	Hap_29 (7)	0	0.000	0.000 00
	BMHC	7	Hap_29 (7)	0	0.000	0.000 00
	BNGD	3	Hap_29 (3)	0	0.000	0.000 00
	LCYDYL	13	Hap_30 (13)	0	0.000	0.000 00
	YSXS	8	Hap_31 (1)、Hap_32 (6)、Hap_33 (1)	2	0.464	0.000 22
	LYLZW	7	Hap_32 (5)、Hap_34 (1)、Hap_35 (1)	2	0.524	0.000 12
	YSCTY	7	Hap_32 (7)	0	0.000	0.000 00
	GZMXCD	6	Hap_32 (6)	0	0.000	0.000 00
疣柄魔芋 *A. paeoniifolius*		16	Hap_36 (2)、Hap_37 (2)、Hap_38 (1)、Hap_39 (1)、Hap_40 (1)、Hap_41 (1)、Hap_42 (1)、Hap_43 (1)、Hap_44 (1)、Hap_45 (1)、Hap_46 (1)、Hap_47 (1)、Hap_48 (1)、Hap_49 (1)	73	0.983	0.004 14

	MXXZ	5	Hap_36 (2)、Hap_37 (2)、Hap_38 (1)	2	0.800	0.000 44
	DW	5	Hap_39 (1)、Hap_40 (1)、Hap_41 (1)、Hap_42 (1)、Hap_43 (1)	14	1.000	0.001 92
	NJZ	6	Hap_44 (1)、Hap_45 (1)、Hap_46 (1)、Hap_47 (1)、Hap_48 (1)、Hap_49 (1)	66	1.000	0.006 73
东亚魔芋 *A. kiusianus*		13	Hap_50 (2)、Hap_51 (1)、Hap_52 (1)、Hap_53 (4)、Hap_54 (1)、Hap_55 (2)、Hap_56 (1)、Hap_57 (1)	56	0.897	0.003 76
	GLYJC	4	Hap_55 (2)、Hap_56 (1)、Hap_57 (1)	5	0.833	0.001 15
	JABF	4	Hap_50 (2)、Hap_51 (1)、Hap_52 (1)	49	0.833	0.009 31
	YLSNG	5	Hap_53 (4)、Hap_54 (1)	1	0.400	0.000 17

表 4　西南地区 6 个魔芋种的种间遗传分化系数（F_{ST}）

Table 4 Genetic differentiation coefficient (pairwise F_{ST}) among six *Amorphophallus* species from Southwest China

物种 Species	花魔芋 *A. konjac*	东京魔芋 *A. tonkinensis*	西盟魔芋 *A. krausei*	滇魔芋 *A. yunnanensis*	疣柄魔芋 *A. paeoniifolius*	东亚魔芋 *A. kiusianus*
花魔芋 *A. konjac*						
东京魔芋 *A. tonkinensis*	0.942					
西盟魔芋 *A. krausei*	0.481	0.920				
滇魔芋 *A. yunnanensis*	0.967	0.936	0.942			
疣柄魔芋 *A. paeoniifolius*	0.818	0.807	0.805	0.860		
东亚魔芋 *A. kiusianus*	0.895	0.892	0.869	0.934	0.775	

注：所有值均达到显著性水平（P<0.05）。

Note: All values are significant (P<0.05).

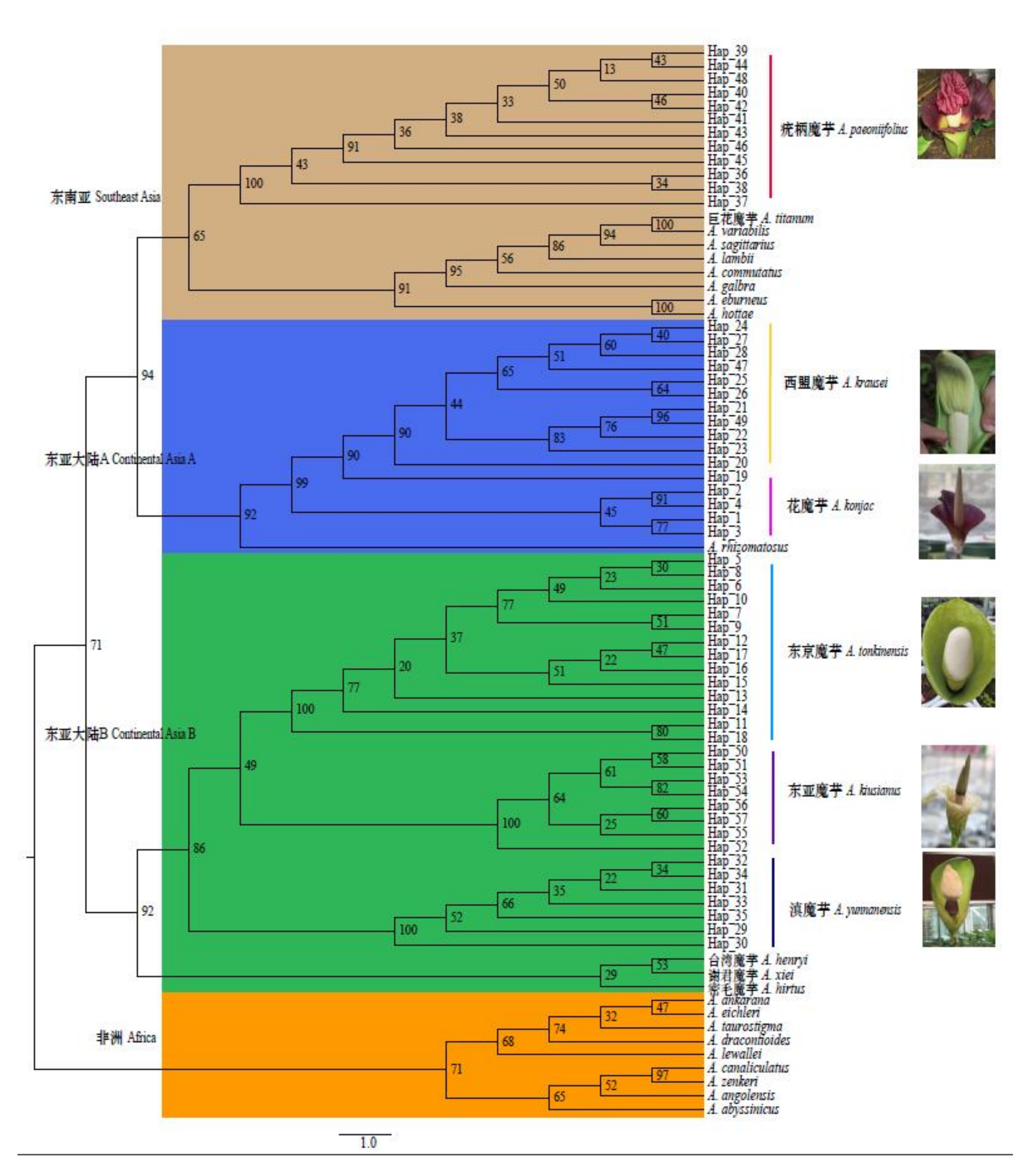
2.3 魔芋属系统发育关系

为评估魔芋属各物种的系统发育关系，结合 GenBank 数据库下载的 21 个魔芋种的 cpDNA 序列进行系统发生分析（表 5），根据 BIC（Bayesian information criterion）评分，HKY+F+R2 模型被检测为最优核酸替换模型。最大似然树表明，27 个魔芋物种聚成三个主要分支，非洲分支、东南亚分支和东亚大陆分支。本研究关注的 6 个物种则以较高的支持率分别被划分在东亚大陆分支和东南亚分支，疣柄魔芋（*A. paeoniifolius*）列入东南亚分支。而东亚大陆分支又进一步分化为两支，分支 A 包含花魔芋(*A. konjac*)和西盟魔芋(*A. krausei*)，分支 B 由东亚魔芋（*A. kiusianus*）、滇魔芋（*A. yunnanensis*）和东京魔芋（*A.tonkinensis*）构成 (图 2)。Neighbor-Net 网状进化分析的结果与 ML 树基本一致，支持东亚魔芋、滇魔芋和东京魔芋构成一个分支，而花魔芋与西盟魔芋的亲缘关系较近的结论（图 3）。

表 5　本研究下载的魔芋 cpDNA 序列 NCBI 登录号

Table 5 Accession numbers of cpDNA downloaded from NCBI GenBank in this study

物种 Species	NCBI GenBank 登录号 NCBI GenBank accession number		
	*trn*L	*rbc*L	*trn*K-*mat*K
A. abyssinicus	AF387433.1	AF497060.1	AF387379.1
A. angolensis	AF387458.1	AF497061.1	AF387404.1
A. ankarana	AF387434.1	AF497062.1	AF387380.1
A. canaliculatus	AF387439.1	AF497066.1	AF387385.1
A. commutatus	AF387441.1	AF497069.1	AF387392.1
A. dracontioides	AF387444.1	AF497072.1	AF387389.1
A. eburneus	AF387445.1	AF497073.1	AF387390.1
A. eichleri	AF387446.1	AF497074.1	AF387391.1
A. galbra	AF387447.1	AF497075.1	AF387393.1
台湾魔芋 *A. henryi*	AF387448.1	AF497076.1	AF387394.1
密毛魔芋 *A. hirtus*	AF387450.1	AF497078.1	AF387396.1
A. hottae	AF387451.1	AF497079.1	AF387397.1
A. lambii	AF387454.1	AF497082.1	AF387400.1
A. lewallei	AF387455.1	AF497083.1	AF387401.1
A. rhizomatosus	AF387469.1	AF497096.1	AF387415.1
A. sagittarius	AF387470.1	AF497097.1	AF387416.1
A. taurostigma	AF387473.1	AF497101.1	AF387420.1
巨花魔芋 *A. titanum*	AF387474.1	AF497102.1	AF387421.1
A. variabilis	MF680482.1	AF497103.1	AF387422.1
谢君魔芋 *A. xiei*	KY887268.1	KY887100.1	KY887184.1
A. zenkeri	AF387477.1	AF497105.1	AF387424.1



各节点数字表示支持率。

Bootstrap values are shown at each node.

图 2　基于 cpDNA 构建的魔芋属各物种最大似然法系统进化树

Fig. 2 Maximum likelihood phylogenetic tree showing the genetic relationships among the observed cpDNA haplotypes of *Amorphophallus* species

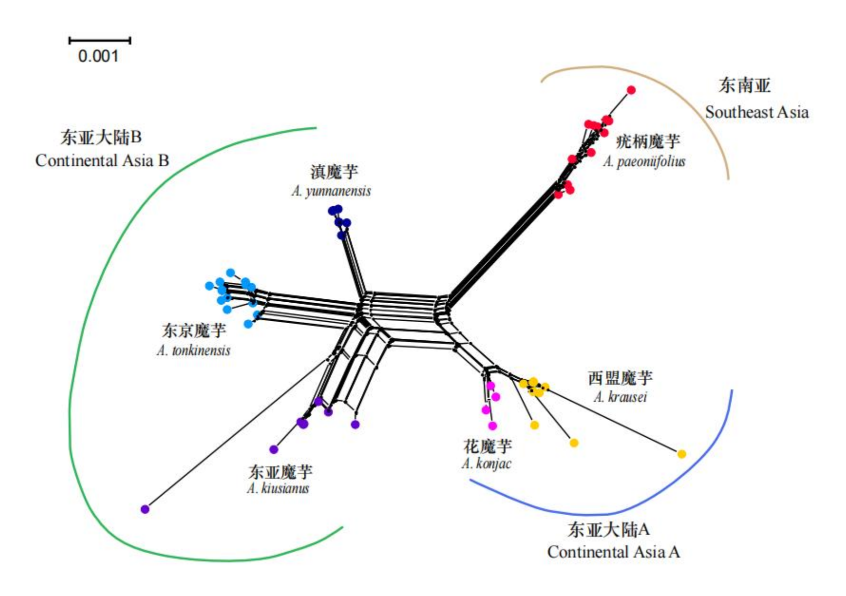


图 3　基于西南地区魔芋属 6 个种的 cpDNA 单倍型构建 Neighbor-Net 进化树

Fig. 3 Neighbor-Net tree constructed with cpDNA haplotypes of six *Amorphophallus* species in Southwest China

3 讨论与结论

遗传多样性与遗传分化不仅能反映物种遗传变异的高低，还能在一定程度上推断群体的演化机制，为制定保护措施提供依据（王峥峰和葛学军，2009）。本研究检测到西南地区魔芋属的 6 个物种存在低水平的群体遗传多样性，造成此现象的主要原因可能是植物的自身散布能力有限，西南山地的生境阻隔造成了群体遗传多样性降低（Gao et al., 2015）。我国西南山地的多种植物，如苦苣苔、胡黄连等，也被报道由于隔离造成了低水平的群体遗传多样性（Gao et al., 2015; 李国栋等，2016; Wang et al., 2017）。此外，近年来西南地区野生魔芋的生境由于人为破坏呈破碎化，加剧了种群衰退和地理隔离，这是群体遗传多样性的降低的人为因素（贺水莲等，2016）。针对该情况，可根据魔芋的遗传分化格局，确定核心种质资源，通过建立群体种源保护地、种质资源圃等多种措施来进行保育（臧润国等，2016）。而在物种水平上，滇魔芋的遗传多样性是 6 个种中最低的，预示着该物种适应环境变化的能力较其他种更弱，后续应加强对其野生群体的保护。

系统发育分析表明魔芋属物种按照地理分布形成三个主要分支，而东亚大陆的类群则进一步分化为两支（Claudel et al., 2017）。目前对魔芋东亚大陆类群分化为两支的原因尚未有明确结论，两个分支之间存在地域重叠，魔芋属早期演化的快速扩张可能导致了该分化格局（Claudel et al., 2017）。形态学研究认为，东亚大陆两个类群间的果实颜色存在差异，可能与吸引相应昆虫进行种子散播有关（Claudel et al., 2017）。鉴于此，生态适应可能也是东亚大陆类群的分化机制之一。细胞学研究也为推断该属的演化历史提供了一些佐证（张风洁，2014）。学者认为 2n=26 是魔芋属的原始核型，2n=24 和 2n=28 由减数分裂过程配子丢失或增加 1 条染色体造成，而 2n=39 则可能是由未正常减数分裂的配子（n=2x=26）与正常减数分裂的配子（n=x=13）杂交形成（Zhao et al., 2021）。针对本研究的物种，东南亚分支的疣柄魔芋和 *A. commutatus* 的染色体数量分别为 2n = 28 和 2n = 26，东亚大陆分支的花魔芋、西盟魔芋、滇魔芋和谢君魔芋的染色体数目均为 2n = 26（张风洁，2014）。目前染色体核型研究涉及的魔芋物种较少，后续需要解析更多物种的染色体组型，以期更深入了解魔芋属的演化历史及规律。

本研究鉴定了西南地区魔芋代表物种间的亲缘关系，虽然我国魔芋栽培面积位居世界第一，但育种资源狭窄，当前品种已不能满足种植产业的需要。要解决魔芋的良种问题，杂交育种不失为一种可行的解决方案。目前已有一些研究开展了魔芋的种间杂交实验，但需要注意因远缘杂交成功率低、子代不育等造成经济损失（刘二喜等，2020）。根据本研究得出的魔芋属物种的亲缘关系合理选择杂交亲本组合，可为今后魔芋的种质创新、杂交育种及杂种优势群的构建提供理论依据。

综上，为对我国西南地区的魔芋野生资源进行遗传评价，研究利用 3 个 cpDNA 标记分析了魔芋属 6 个物种的遗传多样性与遗传分化，鉴定了各种之间的系统进化关系。结果表明，生境隔离和人为干扰可能导致了魔芋野生群体的遗传多样性降低，东亚大陆类群分化为两支可能与早期演化的快速扩张和生态适应相关。魔芋属种间的亲缘关系鉴定可为后续的野生资源利用奠定理论基础。

参考文献：

BAI LW, NIU Y, LIU HL, et al., 2016. The germplasms and breeding progress of *Amorphophallus* [J]. S Chin Agric, 10(4): 48-52. [白立伟，牛义，刘海利，等，2016. 魔芋种质资源及育种研究进展 [J]. 南方农业，10(4): 48-52.]

CLAUDEL C, BUERKI S, CYRILLE C, et al., 2017. Large-scale phylogenetic analysis of *Amorphophallus* (Araceae) derived from nuclear and plastid sequences reveals new subgeneric delineation [J]. Bot J Linn Soc, 184(1): 32-45.

EXCOFFIER L, LISCHER HEL, 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows [J]. Mol Ecol Resour, 10(3): 564-567.

GAO Y, AI B, KONG HH, et al., 2015. Geographical pattern of isolation and diversification in karst habitat islands: a case study in the *Primulina eburnea* complex [J]. J Biogeogr, 42: 2131-2144.

GAO Y, WANG DJ, WANG K, et al., 2020. Genetic diversity and phylogenetics of *Malus baccata* (L.) Borkh revealed by chloroplast DNA variation [J]. Sci Agric Sin, 53(3): 600-611. [高源，王大江，王昆，等，2020. 基于叶绿体 DNA 变异的山荆子种质遗传多样性和系统演化 [J]. 中国农业科学，53(3): 600-611.]

GAO Y, YIN S, WU LF, et al., 2017. Genetic diversity and structure of wild and cultivated *Amorphophallus paeoniifolius* populations in southwestern China as revealed by RAD-seq [J]. Sci Rep-UK, 7(1): 14183.

GROB GBJ, GRAVENDEEL B, EURLINGS MCM, et al., 2002. Phylogeny of the tribe thomsonieae (Araceae) based on chloroplast *mat*K and *trn*L intron sequences[J]. Syst Bot, 27(3): 453-467.

HE SL, YANG Y, DU J, et al., 2016. Status of rescue and conservation on minimum population of wild plants in Yunnan province-Based on genetic diversity analysis [J]. J Anhui Agric Sci, 44(6): 31-34. [贺水莲，杨扬，杜娟，等，2016. 云南省极小群体野生植物保护研究现状—基于遗传多样性分析 [J]. 安徽农业科学，44(6): 31-34.]

HUSON DH, BRYANT D, 2006. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies [J]. Mol Biol Evol, 23(2): 254-267.

JOHNSON LA, SOLTIS DE, 1994. *mat*K DNA sequences and phylogenetic reconstruction in Saxifragaceae s. str [J]. Sys Bot, 19(1): 143-156.

KUMAR S, STECHER G, TAMURA K, 2016. MEGA7: a molecular evolutionary genetics

analysis version 7.0 for bigger datasets [J]. Mol Biol Evol, 33(7): 1870-1874.

LI GD, YIN ZL, LIU XL, 2016. Conservative genetics of *Neopicrorhiza scrophulariiflora* based on cpDNA *trn*L-F [J]. Guihaia, 36(6): 691-697. [李国栋，尹子丽，刘小莉，2016. 基于 cpDNA *trn*L-F 序列的胡黄连保护遗传学研究 [J]. 广西植物，36(6): 691-697.]

LI H, 1988. New taxa of the genus *Amorphophallus* from Yunnan [J]. J Wuhan Bot Res, 6(3): 209-214. [李恒, 1988. 云南魔芋属新分类群 [J]. 武汉植物学研究，6(3): 209-214.]

LI H, LONG CL, 1998. Taxonomy of *Amorphophallus* in China [J]. Acta Bot Yunnan, 20(2): 167-170. [李恒，龙春林，1998. 中国磨芋属的分类问题 [J]. 云南植物研究，20(2): 42-45.]

LIU EX, QIN Y, HU ZL, 2020. Effects of temperature on the pollen function and self-fertilization of *Amorphophallus albus* [J]. Chin Agric Sci Bull, 34(32): 55-61. [刘二喜，覃宇，胡中立，2020. 温度对白魔芋花粉功能及自交结实的影响 [J]. 中国农学通报，36(32): 55-61.]

LIU PY, 2004. Konjac [M]. Beijing: China Agriculture Press: 15-41.[刘佩瑛，2004. 魔芋学 [M]. 北京：农业出版社：15-41.]

NGUYEN LT, SCHMIDT HA, VON HAESELER A, et al., 2014. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies [J]. Mol Biol Evol, 32(1): 268-274.

NIU Y, ZHANG SL, WANG ZM, et al., 2005. Research and utiliztion of konjac (*Amorphophallus*) resources in China [J]. J SW Univ (Nat Sci Ed), 27(5): 69-73. [牛义，张盛林，王志敏，等，2005. 中国魔芋资源的研究与利用 [J]. 西南农业大学学报（自然科学版），27(5): 69-73.]

OLMSTEAD RG, MICHAELS HJ, SCOTT KM, et al., 1992. Monophyly of the Asteridae and identification of their major lineages inferred from DNA sequences of *rbc*L [J]. Ann Mo Bot Gard, 79(2): 249-265.

PAN C, GICHIRA AW, CHEN JM, 2015. Genetic variation in wild populations of the tuber crop *Amorphophallus konjac* (Araceae) in central China as revealed by AFLP markers [J]. Genet Mol Res, 14(4): 18753-18763.

REN PY, PAN MQ, 2013. Population genetics structure of five *Amorphophallus* species from the south of Yunnan Province by inter-simple sequences (ISSR) markers [J]. J Wuhan Univ (Nat Sci Ed), 59(1): 99-104. [任盘宇，潘明清，2013. 云南南部 5 种魔芋属植物居群遗传结构的 ISSR 分析 [J]. 武汉大学学报(理学版)，59(1): 99-104.]

SEDAYU A, EURLINGS MCM, GRAVENDEEL B, et al., 2010. Morphological character evolution of *Amorphophallus* (Araceae) based on a combined phylogenetic analysis of *trn*L, *rbc*L and *LEAFY* second intron sequences [J]. Bot Stud, 51: 473-490.

SIMMONS MP, OCHOTERENA H, 2000. Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses [J]. Syst Biol, 49(2): 369-381.

SRZEDNICKI G, BOROMPICHAICHARTKUL C, 2020. Konjac glucomannan-production, processing, and functional applications [M]. Boca Raton: CRC Press: 35-39.

TABERLET P, GIELLY L, PAUTOU G, et al., 1991. Universal primers for amplification of three noncoding regions of chloroplast DNA [J]. Plant Mol Biol, 17(5): 1105-1109.

XUAN M, 2015. Diversity of morphology and ISSR analysis of *Amorphophallus* germplasms [D]. Chongqing: Southwest University: 12-20. [宣慢，2015. 魔芋种质资源形态多样性与 ISSR 分析 [D]. 重庆：西南大学：12-20.]

WANG J, FENG C, JIAO TL, et al., 2017. Genomic signature of adaptive divergence despite strong nonadaptive forces on edaphic islands: a case study of *Primulina juliae* [J]. Genom Biol Evol, 9(12): 3495-3508.

WANG ZF, GE XJ, 2009. Not only genetic diversity: advances in plant conservation genetics [J]. Biodivers Sci, 17(4): 330-339. [王峥峰，葛学军，2009. 不仅仅是遗传多样性：植物保护遗传学进展 [J]. 生物多样性，17(4): 330-339.]

ZANG RG, DONG M, LI JQ, et al., 2016. Conservation and restoration for typical critically endangered wild plants with extremely small population [J]. Acta Ecol Sin, 36(22): 7130-7135. [臧润国，董鸣，李俊清，等，2016. 典型极小群体野生植物保护与恢复技术研究 [J]. 生态学报，36(22): 7130-7135.]

ZHANG FJ, 2014 Karyotype study and ISSR analysis of genetic relationship of *Amorphophallus tuberosus* [D]. Chongqing: Southwest University: 6-8. [张风洁，2014. 珠芽魔芋的核型研究及其遗传关系的 ISSR 分析 [D]. 重庆：西南大学：6-8.]

ZHANG SL, SUN YH, 2006. RAPD analysis of the *Amorphophallus albus* germplasm [J]. Chin Agric Sci Bull, 22(12): 401-404. [张盛林，孙远航，2006. 白魔芋种质资源的 RAPD 分析 [J]. 中国农学通报，22(12): 401-404.]

ZHAO CF, SHE X, LIU EX, et al., 2021. A mixed ploidy natural population of *Amorphophallus muelleri* provides an opportunity to trace the evolution of *Amorphophallus* karyotype [J]. J Genet, 100:10.

ZHAO PC, ZHANG JJ, ZHOU XX, et al., 2015. Application of konjac glucomannan and its derivatives in food industry [J]. J Nucl Agric Sci, 29(1): 101-105. [赵培城，张晶晶，周绪霞，等，2015. 魔芋葡甘露聚糖及其衍生物在食品工业中的应用 [J]. 核农学报，29(1): 101-105.]